ПАРАЗИТОЛОГИЯ, VIII, 5, 1974

УДК 576.893.122.1

ЖИРОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ОБОЛОЧЕК И ООЦИСТ EIMERIA TENELLA

М. Ф. Перов

Всесоюзный научно-исследовательский институт по болезням птиц, Ленинград

Сообщается о жирокислотном составе липидов, выделенных из ооцист кокцидий *E. tenella*. Установлено, что в состав липидов ооцист и оболочек *E. tenella* входят следующие высшие жирные кислоты: миристиновая, пентадекановая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, гептадекановая, стеариновая, олеиновая, линолевая, арахиновая. По количественному составу высших жирных кислот липиды ооцист резко отличаются от липидов их оболочек.

В обмене веществ наряду с белками и углеводами огромная роль принадлежит липидам. Липиды представляют большую группу нейтральных жиров и липоидов, являются важнейшими энергетическими резервами организмов, а также структурными компонентами клеток. Концентрируясь обычно на периферии клеток, липиды вместе с белками образуют полунепроницаемую мембрану и таким образом участвуют в регуляции процессов проницаемости различных веществ в клетки организмов.

Несомненно, жирные кислоты, входящие в состав липидов ооцист кокцидий, играют большую роль в качестве защитного барьера от вредных воздействий окружающей среды. Липиды и липоиды совместно с белками и полисахаридами образуют достаточно мощную оболочку ооцист, способную противостоять сильнодействующим химическим средствам.

В данной работе мы попытались определить жирокислотный состав липидов, выделенных из ооцист и их оболочек, рассчитывая, что полученные результаты пополнят наше представление о биохимической структуре кокцидий кур и смогут быть использованы при синтезе дезинвазирующих средств и кокцидиостатиков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве материала для экстракции липидов использовали ооцисты *E. tenella* в спорулированной форме и их оболочки. Необходимое количество ооцист кокцидий, свободных от механических и биологических примесей, было получено по методике, разработанной в лаборатории протозоологии ВНИИБП. Оболочки ооцист кокдиций отделяли путем предварительного разрушения ооцист на магнитной мешалке в фосфатнобуферном растворе с бусами и последующим дифференциальным центрифугированием. Ооцисты кокцидий и оболочки разрушали в фарфоровой ступке с окисью алюминия. Извлечение липидов производили по Фольчу с соавторами (Folch et al., 1951, 1957) смесью хлороформа с метанолом в отношении 2 : 1 по объему.

Так как анализу на газожидкостном хроматографе подвергаются не свободные жирные кислоты, а их метиловые эфиры, то в дальнейшем извлеченные липиды подвергали переэстерификации по методу Стофела (Stofell, 1959). Анализ полученных метиловых эфиров жирных кислот проводили методом газожидкостной хроматографии (James a. Martin, 1952, 1956) на аппарате системы «Пай-104» с пламенно-ионизационным детектором.

Разделение производили при следующих параметрах работы прибора: использовалась колонка длиною 1.5 м с внутренним диаметром 4 мм. Носителем жидкой фазы служил хромосорб (60—80 меш). В качестве неподвижной фазы использовали 15% диэтилен гликальсукцин (ДЭГС) — полярная фаза в 3% Se-30 (General Electric) неполярная фаза. Газоносителем служил аргон. Давление аргона на выходе — 20 мм рт. ст. Разделение проводили при температуре колонки 195°. Водород подавался со скоростью 60 мл/мин. Разделение заканчивалось в течение 45 мин.

Количественное определение жирных кислот производили по методу Горнинга с соавторами (Horning et al., 1964). Стандартами служили смеси насыщенных жирных кислот с длиной цепи от 10 до 24 углеродных атомов и ненасыщенные — олеиновая, линолевая, линоленовая, арахиновая.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Липиды ооцист кокцидий темно-коричневого цвета, твердой консистенции, точка плавления находится в пределах 54°. В состав липидов, выделенных из ооцист и оболочек, входят следующие жирные кислоты (см. таблицу).

Таким образом, в состав липидов ооцист и оболочек ооцист *E. tenella* входит 10 высших жирных кислот с длиной цепи от 14 до 20 углеродных атомов. В состав липидов ооцист кокцидий и их оболочек входят одни и те же жирные кислоты, однако процентное их соотношение в оболочках ооцист и в самих ооцистах резко отличается. Эти различия особенно заметны в содержании насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, соотношение которых в ооцистах кокцидий составляет 2.05, а в оболочках — 0.96. Такое несоответствие в содержании жирных кислот в оболочках и в самих ооцистах объясняется прежде всего морфобиологическими особенностями отдельных структур ооцист кокцидий. Не исключено, что кроме защитной функции оболочка ооцисты также активно участвует в процессах обмена веществ. В подтверждение этому говорит тот факт, что при длительном хранении ооцист кокцидий (свыше 12 месяцев) наружная оболочка их становится проницаемой для иода, хотя структура ее и не имеет видимых в световом микроскопе изменений. Такое же явление мы наблюдали и при воздействии на ооцист кокцидий высоких температур, прямых солнечных лучей и высушивания.

Содержание высших жирных кислот в липидах, выделенных из ооцист и оболочек ооцист *E. tenella* (в%)

Название кислот	Ооцисты	Оболочки ооцист
Миристиновая	6.32	2.0
Пентадекановая	Следы	Следы
Пальмитиновая	18.35	30.80
Пальмитолеиновая . . .	6.25	1.80
Гептадекановая	Следы	1.20
Гептадеценовая	Следы	0.20
Стеариновая	7.99	15.70
Олеиновая	46.50	37.60
Линолевая	14.58	9.60
Арахиновая	Следы	0.30

Наличие в оболочках линолевой кислоты, которая не синтезируется в животных организмах, еще раз подтверждает наше предположение об активной роли наружных оболочек ооцист кокцидий в процессе поддерживания и сохранения этих видов паразитических простейших в природе.

ВЫВОДЫ

1. В липидах оболочек ооцист и в ооцистах *E. tenella* обнаружено 10 высших жирных кислот.

2. Отношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным в оболочках кокцидий составляет 0.96, а в ооцистах — 2.05.

Литература

Folch J. and Ascoli J. 1951. Preparation of lipide extracts from brain tissue. Biol. Chem.., 191 : 833.

Folch J., Lees M. a. Stanley G. H. S. 1957. A simple method for the isolation purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem., 226 : 497.

Horning E. S., Ahrens E. H., Lipsky S. R., Mattson P. H., Mead J. F., Tarner D. A. and Goldluater W. H. 1964. Quantitative analisis of fatty acids by gasliquid chromatography. J. Lapid. Res., 5 : 20.

James A. M. and Martin A. J. 1952. Gas-liquid partition chromatography : the separation and microestimation of volatite fatty acids from formic to dodecanoic acids. Biochem. J., 5 : 679.

James A. T. anb Martin A. J. 1956. Gas-liquid chromatography : the separation and identification of the methyl esters of saturated and unsatureted acids from formic to n-octadecanoic acids. Biochem. J., 63 : 144.

Stoffel W. C. F. and Ahrens E. H. 1959. Analysis of longchain fatty acids by gas-liquid chromatography. Micromethod for preparation of methyl ester. Analyt. Chem., 31 : 307.

ADIPIC ACIDS CONTENT OF LIPIDS IN MEMBRANES AND OOCYSTS OF EIMERIA TENELLA

M. F. Perov

SUMMARY

Lipids of oocysts and oocyst membranes of *E. tenella* include the higher adipic acids as follows: myristic, pentadecanoic, palmitic, palmitoleic, heptadecanoic, heptadecynoic, stearic, oleic, linoleic and arachic. The adipic acids per cent ratio is different in oocysts and oocyst membranes. The ratio of unsaturated and saturated adipic acids is 0.96 and 2.05 in oocyst membranes and oocysts, respectively (table 1).